

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-70852

(43) 公開日 平成8年(1996)3月19日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/20	A	8828-4B		
C 0 8 B 3/06		7433-4C		
D 0 6 M 16/00	A			
// (C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:085)				

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-212498

(22) 出願日 平成6年(1994)9月6日

(71) 出願人 000003001

帝人株式会社

大阪府大阪市中央区南本町1丁目6番7号

(71) 出願人 591030499

大阪市

大阪府大阪市北区中之島1-3-20

(72) 発明者 山内 達夫

大阪府茨木市耳原3丁目4番1号 帝人株式会社大阪研究センター内

(72) 発明者 酒井 清文

大阪府大阪市生野区生野西3丁目2番4号

(74) 代理人 弁理士 前田 純博

(54) 【発明の名称】 セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物および該微生物を担持したセルロースアセテート成形体

(57) 【要約】

【目的】 セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物を単離し、その微生物を使用して、生分解素材として適度に促進された生分解性を有するセルロースアセテートからなる成形体を提供すること。

【構成】 酢化度が10~57%のセルロースアセテートからなる成形体であって、該成形体は、バチルス セレウス (Bacillus cereus)、バチルス エスピー (Bacillus sp.) 及び スフィンゴモナス パウシモビリス (Sphingomonas paucimobilis) からなる群から選ばれた少なくとも1種の、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び/又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を担持した成形体である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物バチルス セレウス (*Bacillus cereus*)。

【請求項2】 工業技術院生命工学研究所受託番号FERM P-14431を有する請求項1記載の微生物。

【請求項3】 セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物バチルス エスピー (*Bacillus sp.*)。

【請求項4】 工業技術院生命工学研究所受託番号FERM P-14430を有する請求項3記載の微生物。

【請求項5】 酢化度が10～57%のセルロースアセテートからなる成形体であって、該成形体は、バチルス セレウス (*Bacillus cereus*)、バチルス エスピー (*Bacillus sp.*) 及びスフィンゴモナスパウシモビリス (*Sphingomonas paucimobilis*) からなる群から選ばれた少なくとも1種の、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を担持した成形体であることを特徴とするセルロースアセテート成形体。

【請求項6】 微生物が工業技術院生命工学研究所受託番号FERM-14431を有する微生物である請求項5記載のセルロースアセテート成形体。

【請求項7】 微生物が工業技術院生命工学研究所受託番号FERM-14430を有する微生物である請求項5記載のセルロースアセテート成形体。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物および該微生物を担持した、生分解性が高められたセルロースアセテートからなる成形体に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】近年、環境破壊は極めて深刻な問題となっており、合成樹脂、合成繊維などの分解し難い合成品がそのまま残存し、環境を汚染していることが大きな問題となっている。これに対して木綿、レーヨンといったセルロース製品などは、非常に生分解性に優れているため、地球環境に優しい素材として注目を集め、各種の応用、開発が行われている。

【0003】例えば、特開平5-41923号公報には、綿製不織布にセルラーゼ、又はプロテアーゼ酵素を含む水溶液をパッド処理することにより分解酵素を付着させ、分解酵素の付着量により土中での腐敗をコントロール促進する方法が開示されている。しかし、この様な不織布は、生分解速度があまりにも速すぎて実使用に供し難い場合が多い。

【0004】一方、セルロースを酢化して得られるセルロースアセテートは、セルロースに比べて分解速度は低

いものの、長年月の間には生分解するといわれており、これを用いれば、上記問題を解決できるのではないかと考えられる。

【0005】しかしながら、セルロースジアセテート繊維やセルローストリアセテート繊維は通常、繊維表面と繊維内部の酢化度が異なっており、該繊維を土中などに埋没した場合、次第に分解速度が低下していくので実際の生分解速度は非常に遅く、また、芯部のセルロースアセテートはほとんど分解せずに自然環境中に残存するので、生分解素材として実用化できるものは得られていないのが実情である。

【0006】一方、Polym. Mater. Sci. Eng., 67, 139-140, 1992. には、セルロースアセテートを分解することが可能な微生物が2株単離され、それぞれスフィンゴモナス パウシモビリス (*Sphingomonas paucimobilis*) 及びバチルス (*Bacillus*) 属に属する微生物 (バチルス エスピー (*Bacillus sp.*) と称される) と同定されたことが開示されている。

【0007】しかしながら、前者はセルロースアセテートの分解メカニズムが不明瞭であり、又後者はセルロースアセテートを炭素源として生育できないという欠点があるため、該微生物をセルロースアセテートに担持して、生分解性的高められた成形体を得るという着想は生まれなかったのが実情である。

## 【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、上記の問題点を解消し、あらゆる自然環境において、セルロースアセテートを脱アセチル化し、生分解することが可能な微生物及び該微生物を担持した成形体を提供する事にある。

## 【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、上記目的を達成するために、種々検討を重ねた結果、ある種のセルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物を土中より単離することに成功し、また該微生物及び／又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を担持させる事により、セルロースアセテートの生分解速度が高められることを究明した。

【0010】かくして本発明によれば、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物バチルス セレウス (*Bacillus cereus*) が見出され、その菌株の1種は工業技術院生命工学研究所に、受託番号FERM P-14431として寄託された。

【0011】又、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有し、且つセルロースアセテートを炭素源として生育できる微生物バチルス エスピー (*Bacillus sp.*) が見いだされ、その菌株の1種は工業技術院生命工学研究所に、受託番号FERM P-14430

として寄託された。

【0012】さらに、本発明によれば、酢化度が10～57%のセルロースアセテートからなる成形体であって、該成形体は、バチルス セレウス (Bacillus cereus)、バチルス エスピー (Bacillus sp.) 及びスフィンゴモナス パウシモビリス (Sphingomonas paucimobilis) からなる群から選ばれた少なくとも1種の、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を担持した成形体であることを特徴とするセルロースアセテート成形体が提供される。

【0013】本発明で使用する成形体を形成するセルロースアセテートは、10～57%の酢化度を有していることが必要である。

【0014】酢化度が57%を越えるとセルロースアセテート自身の生分解速度が急激に低下し、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物が産出するセルロースアセテート脱アセチル化酵素に起因する分解を受けにくくなる為、生分解素材として実用に供することが出来ない。

【0015】一方、酢化度が10%未満では、生分解速度が実質的にセルロースと同等になり、生分解速度が高すぎて使用に供しえない場合がある。

【0016】セルロースアセテート自身の生分解速度は、土の種類、季節、湿度等の環境条件により影響を受けやすいが、これらの環境条件及び使用目的に応じて、酢化度が10～57%のセルロースアセテートを用い、更にこれにセルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物の産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を担持させれば、適度に促進された生分解速度を有する成形体を得ることが出来る。

【0017】本発明においては、上記セルロースアセテートにバチルス セレウス (Bacillus cereus)、バチルス エスピー (Bacillus sp.) 及びスフィンゴモナス パウシモビリス (Sphingomonas paucimobilis) からなる群から選ばれた少なくとも1種の、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を担持させることが必要である。

【0018】上記微生物及び／又は酵素により脱アセチル化を受けたセルロースアセテートは、続いて、土中、水中などの環境中に広く普遍的に存在するセルロース分解酵素の作用を受けると考えられるが、セルロース分解酵素が微量しか存在しない場合に備え、該成形体には上記微生物及び／又は酵素に加えて、セルロース分解微生物及び／又はセルロース分解酵素を担持させてもよい。

【0019】バチルス セレウス D (Bacillus cereus D) およびバチルス エスピー A

(Bacillus sp. A) の2種の菌株は本発明者らが見いだしたものであり、これらはそれぞれ受託番号FERM P-14431号およびFERM P-14430号として、工業技術院生命工学工業技術研究所に平成6年7月15日に寄託されている。

【0020】バチルス セレウス D (Bacillus cereus D) およびバチルス エスピー A (Bacillus sp. A) の菌学的性質を以下に示す。

【0021】(1) 形態的性質

バチルス セレウス D (Bacillus cereus D) およびバチルス エスピー A (Bacillus sp. A) の形態的性質を表1に示す。

【0022】

【表1】

	バチルス エスピー A	バチルス セレウス D
形状	桿菌	桿菌
運動性	あり	あり
孢子の有無	あり	あり
孢子形状	だ円又は 円筒状	だ円又は 円筒状
孢子囊の ふくらみ	あり	なし
優勢な孢子 の部位	末端又は その付近	中央部分

【0023】(2) 培養的性質

バチルス セレウス D (Bacillus cereus D) およびバチルス エスピー A (Bacillus sp. A) の培養的性質を表2に示す。

【0024】

【表2】

	バチルス エスピー A	バチルス セレウス D
コロニーの性状 (25℃で培養)	不規則、円状 隆起状、滑ら か、不透明、 全縁、灰白色 72時間後 3~4mmφ	不規則、光沢 なし、平たい 起伏のある、 不透明、白色 72時間後 6mmφ
ゼラチン液化の有無	あり	あり
卵黄反応	-	+

【0025】なお、表1の形態的性質および表2中のコロニーの色は表3の組成を有する肉汁寒天平板培養、また、ゼラチンの液化の有無は表4の組成を有する肉汁ゼラチン穿刺培養を行なった時のものである。

【0026】

【表3】

肉エキス	10g
ペプトン	10g
NaCl	5g
寒天	20g
脱イオン水	1000ml
PH	7.2

【0027】

【表4】

肉エキス	10g
ペプトン	10g
NaCl	5g
ゼラチン	200g
脱イオン水	1000ml
PH	7.2

【0028】(3) 生理学的性質

バチルス セレウス D (*Bacillus cereus* D) およびバチルス エスピー A (*Bacillus* sp. A) の寒天平板培地における生理学的性質を表5に示す。

【0029】

【表5】

	バチルス エスピー A	バチルス セレウス D	備 考
グラム染色性	—	+	
硝酸塩の還元	+	+	
VPテスト	+	+	アセトイン
VPブロス中pH	<5. 2	<5. 2	
インドール生成	—	未測定	
でんぶん加水分解	—	—	
クエン酸の利用	+	(+)	(+) 弱い
ウレアーゼ	—	+	
オキシダーゼ	+	+	
カタラーゼ	+	+	
嫌気生育	—	+	グルコース寒天培地
グルコースから酸の生成	—	+	
グルコースからガスの生成	—	—	
生育の範囲	37℃ + 45℃ + 50℃~ -	37℃ + 45℃~ -	
pH 5. 7での生育	—	—	

【0030】(4) その他の諸性質

また、バチルス セレウス D (*Bacillus cereus* D) およびバチルス エスピー A (*Bacillus* sp. A) は、肉汁寒天平板培地にお

いて表6に記載の諸性質を示す。

【0031】

【表6】

	バチルス エスピー A	バチルス セレウス D	備 考
エスクリンの分解	—	+	
塩化ナトリウムの耐性 5% 7% 10%	(+) — —	— — —	(+) 10日以上 かかり生育
プロピオン酸利用	—	+	
細胞内細粒	—	+	グルコース寒天培地
カゼイン分解	(+)	+	(+) 弱い
チロシン分解	—	—	
アルギニンジヒドロラーゼ	—	—	
DNase	—	+	

【0032】さらに、バチルス エスピー A (Bacillus sp. A) は、表7に記載の炭素源の利用性を示す。

【0033】  
【表7】

バチルス エスピー Aの各種基質の利用

グリセリン	—	アスクリン	—
エリスリトール	—	サリシン	—
D-アラビノース	—	セロビオース	—
L-アラビノース	—	マルトース	—
リボース	+	ラクトース	—
D-キシロース	—	メリビオース	—
L-キシロース	—	スクロース	+
アドニトール	—	トレハロース	—
メチル β-D-キシロシド	+	インシュリン	—
ガラクトース	—	メレチトース	—
D-グルコース	+	D-ラフィノース	—
D-フルクトース	—	スターチ	—
D-マンノース	—	グリコーゲン	—
L-ソルボース	—	キシリトール	—
ラムノース	—	β-ゲンチオビオース	—
ズルシトール	—	D-ツラノース	—
イノシトール	—	D-リキソース	—
マンニトール	—	D-タガトース	—
ソルビトール	—	D-フコース	—
メチル α-D-マンノシド	—	L-フコース	—
メチル α-D-グルコシド	—	D-アラビトール	—
N-アセチルグルコサミン	+	L-アラビトール	—
アミグダリン	—	グルコネート	—
アルブチン	—	2-ケト-グルコネート	—
		5-ケト-グルコネート	—

【0034】以上の菌学的性質により、本発明者らが見いだしたバチルス セレウス D (Bacillus cereus D) は、BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology等に基づき、バチルスセレウス (Bacillus cereus) に属する新種菌と同定された。

【0035】同様に、バチルス エスピー A (Bacillus sp. A) は、バチルス (Bacillus) 属に属する微生物であると考えられるが、近縁と考えられるBacillus sphaericus、Bacillus firmus、Bacillus alvei、Bacillus brevis、Bacillus laterosporus、Bacillus circulansとは幾つかの菌学的性質が異なるので、該微生物は、バチルス (Bacillus) 属のうち第II群のサブグループに属する新種菌と同定された。

【0036】また、本発明で使用するスフィンゴモナス パウシモビリス (Sphingomonas paucimobilis) は、バチルス セレウス D (Bacillus cereus D) やバチルス エ

スピー A (Bacillus sp. A) と同様、セルロースアセテートの分解能を有するものであり、IFO 13934~IFO13936などの公知の市販品が例示される。

【0037】上記バチルス セレウス D (Bacillus cereus D)、バチルス エスピー A (Bacillus sp. A) およびスフィンゴモナスパウシモビリス (Sphingomonas paucimobilis) はいずれも、セルロースアセテートを脱アセチル化する性質を有している。

【0038】即ち、バチルス セレウス D (Bacillus cereus D)、バチルス エスピー A (Bacillus sp. A) およびスフィンゴモナス パウシモビリス (Sphingomonas paucimobilis) のIFO13934~IFO13936を用いて下記の試験を行なった結果、いずれの菌株を用いた場合もメンブランフィルターは青色に染まった。

【0039】つまり、未処理のメンブランフィルター及び植菌を行わないで培養して得られたメンブランフィルターは、上記の染料では全く染色されないことから、上

記の菌でセルロースアセテートを処理した場合には、セルロースアセテートが脱アセチル化されて-OH基が生成し、-OH基に反応する反応染料により青色に染色されたものと考えられる。

【0040】(脱アセチル化の確認試験)セルロースアセテート製メンブランフィルター(アドバンテック東洋製、No. C080A047A)一枚を含む、表8に示す培地に植菌し、28℃で14日間振盪培養を行った。培養終了後、メンブランフィルターを取り出し蒸留水で良く洗浄した。このメンブランフィルターを、-OH基に反応する反応染料Mikacion Blue 2R(三菱化成工業 製)を用いて以下に示す方法で染色した。

①染料75mgを100ml蒸留水に溶解し、この溶液に試料のメンブランフィルターを加える。

②①の溶液に15%Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液25mlを加え、

25℃で30分振盪する。

③②の溶液に0.2%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液25mlを加え、25℃で60分振盪する。終了後、試料を取り出し、5分水洗、5分湯洗、5分水洗を繰り返し、風乾する。

【0041】上記微生物のうち、バチルス セレウス D (Bacillus cereus D) および バチルス エスピー A (Bacillus sp. A) は、各種土壌から採取した菌を、セルロースアセテート粉末およびセルロース粉末を炭素源として含む培地で培養し、数回の植えつぎを繰り返して、炭素源がセルロースアセテート粉末のみの培地で生育可能な菌のみを抽出した後、表8に示す培地で振盪培養して単離することにより得られる。

【0042】

【表8】

セルロースアセテート粉末(酢化度54%)	10g
ポリペプトン	1g
粉末酵母エキス	0.5g
無機塩溶液	50ml
MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O 1%水溶液	50ml
5% Plysurf A210-G	1ml
脱イオン水	899ml
PH	7.0

【0043】なお、表8中の無機塩溶液は、表9の組成を有するものである。

【0044】

【表9】

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10g
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	20g
NaCl	5g
脱イオン水	500ml

【0045】バチルス セレウス D (Bacillus cereus D)、バチルスエスピー A (Bacillus sp. A)、スフィンゴモナス パウシモビリス (Sphingomonas paucim

obilis) を培養するための培地成分は、表8の組成を有するものが好ましく例示されるが、例えば、炭素源として澱粉、デキストリン、セルロース、グルコース、サッカロース等の単糖〜少糖類、セロビオースオクタセテート、マルトース、フラクトース、シュクロース、酢酸や酢酸塩などの有機酸および/またはその塩などを、また窒素源として酵母エキス、カゼイン、大豆タンパクや各種タンパク加水分解物などを用いても構わない。

【0046】また、温度、pHなどの培養条件は、該微生物が生育できる条件を適宜選択すれば良い。

【0047】また、本発明で使用されるセルロースアセテート脱アセチル化酵素は、上記セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物を培地に培養することにより産生される。その際の培地成分は表8の組成を有するものの他、上記の炭素源や窒素源を使用したものが好ましく例示される。

【0048】上記の方法で得られたセルロースアセテ-

トの脱アセチル化能を有する微生物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素は、各種方法でセルロースアセテートに担持させることが必要である。

【0049】担持方法としては、得られた成形体が自然環境中に廃棄された場合に、担持されたセルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素が該成形体を効率よく分解できるような方法であれば良く、例えば以下のような方法が挙げられる。

【0050】①セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物から産生されたセルロースアセテート脱アセチル化酵素の溶液をそのまま或いは濃縮し、成形体に担持させる。

【0051】担持方法としては公知の方法、例えばパッド法、スプレー法、コーティング法、ハケ塗りなどが挙げられる。この際、セルロースアセテート脱アセチル化微生物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素の接着を良好に行う為の接着剤を添加することが好ましい。

【0052】接着剤としては、例えば澱粉系の糊剤、ポリビニルアルコール系の糊剤、アクリル酸系の糊剤、アルギン酸、カラゲナン、ゼラチン、カルボキシメチルセルロース等のセルロース誘導体、酢酸ビニル樹脂、ウレタン樹脂など、公知の剤が挙げられる。

【0053】②成形体に微生物捕捉能をもつ剤（例えば、いわゆるポリジニウム型樹脂等）を付着させ、これに微生物を担持させる。

【0054】③セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素を乾燥粉末及び／又は水分を含む固形物状にまで濃縮し、これをそのまま或いは接着剤を用い成形体に担持させる。

【0055】接着剤としては、例えば上記の接着剤の他に、セルロースアセテートを有機溶剤（例えばアセトン）に溶解したドープ、ポリカプロラクトンを有機溶剤（例えばテトラヒドロフラン）に溶解したドープなど、各種接着剤を有機溶剤に溶解及び／又は懸濁したものを使用することが出来る。

【0056】④セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素の粉末を成形体に付着させ、その上に上記ドープをコーティングする。

【0057】⑤粉末状のセルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素を糊剤などで固め、或いは袋体に封入し、或いはカプセル化し、これを成形体に埋め込むか又は付着させる。

【0058】⑥セルロースアセテートの繊維やフィルムをアセトン等に溶解したドープより形成する際、ドープにセルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物

物及び／又はセルロースアセテート脱アセチル化酵素を混入する。

【0059】ここで、成形体とは、セルロースアセテートからなる布帛、フィルム、及び、ボトル、カップ等の各種成形品を意味する。成形体は、その用途、目的にあった使用時の性能を得るために各種添加剤を含んでいてもよい。又、使用後、廃棄時の生分解性の改良を目的として他の生分解素材や、例えば界面活性剤、触媒等の各種添加剤を含んでいてもよい。

【0060】

【作用】本発明は、新規なセルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び／又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素を見だし、これがセルロースアセテートを脱アセチル化することを利用したものであり、セルロースアセテートからなる成形体に上記微生物及び／又は脱アセチル化酵素を担持させることにより、適度に促進された生分解性を有するセルロースアセテート成形体を得ることができる。

【0061】上記微生物及び／又は酵素の作用により、セルロースアセテートが分解する機構については明確ではないが、先ずセルロースアセテートの脱アセチル化反応が起こり、続いて脱アセチル化を受けたセルロースアセテートが環境中に存在するセルロース分解酵素の作用を受け、セルロースアセテート分子の主鎖の切断が起こっていくものと推定される。

【0062】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を説明するが、本発明は、これらの実施例により何ら制限されるものではない。

【0063】[バチルス セレウス D (*Bacillus cereus* D) およびバチルス エスピー A (*Bacillus sp.* A) の単離] 大阪府茨木市耳原の帝人株式会社大阪研究センター内および愛媛県松山市北吉田町の帝人株式会社松山事業所内の土壌から採取した計25種の菌を、表10および表11に示す培地を用いて5回の植えつぎを行ない、炭素源がセルロースアセテートのみで生育可能な菌を抽出した。

【0064】次いで、表12に示す培地を用いてさらに2回の植えつぎを行ない、63日間の培養を行なった。なお、表10、11および12中の無機塩溶液は表9の組成を有するものである。

【0065】さらに、表8に示す培地を用いて21日間の振盪培養を行ない、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有するバチルス セレウス D (*Bacillus cereus* D) およびバチルス エスピー A (*Bacillus sp.* A) の2種の菌株を単離した。

【0066】

【表10】



	培養開始時	第1回植継	第2回植継
アセテート粉末 (酢化度54%)	1 g	20 g	10 g
アセテート繊維 (酢化度39%)	—	5 g	5 g
アセテート粉末 (酢化度40%)	—	—	—
セルロース粉末	5 g	5 g	2.5 g
デキストリン	2.5 g	2.5 g	—
ポリペプトン	1 g	1 g	1 g
粉末酵母エキス	0.5 g	0.5 g	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O 1%水溶液	50 ml	50 ml	50 ml
無機塩溶液	50 ml	50 ml	50 ml
脱イオン水	900 ml	900 ml	900 ml

【0067】

【表11】

	第3回植継	第4回植継	第5回植継
アセテート粉末 (酢化度54%)	10 g	10 g	10 g
アセテート繊維 (酢化度39%)	5 g	—	—
アセテート粉末 (酢化度40%)	—	10 g	10 g
セルロース粉末	2.5 g	—	—
デキストリン	—	—	—
ポリペプトン	1 g	0.2 g	0.2 g
粉末酵母エキス	0.5 g	0.2 g	0.2 g
MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O 1%水溶液	50 ml	50 ml	50 ml
無機塩溶液	50 ml	50 ml	50 ml
脱イオン水	900 ml	900 ml	900 ml

【0068】

【表12】

	第6回植継	第7回植継	
		培地1	培地2
アセテート粉末 (酢化度20%)	10g	3g	—
アセテート粉末 (酢化度40%)	—	—	3g
デキストリン	0.2g	—	—
ポリペプトン	0.2g	0.2g	0.2g
粉末酵母エキス	0.2g	0.2g	0.2g
MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O 1%水溶液	50ml	50ml	50ml
無機塩溶液	50ml	50ml	50ml
脱イオン水	900ml	900ml	900ml

【0069】〔実施例1〕3種の普通栄養培地に、それぞれバチルス セレウス D (*Bacillus cereus* D)、バチルスエスピー A (*Bacillus* sp. A)、スフィンゴモナス パウシモビリス (*Sphingomonas paucimobilis*) IFO13934を接種し、28℃で2日間培養した。得られた培養液にトウモロコシ澱粉を5%となるように、糊化したトウモロコシ澱粉溶液を加えた。

【0070】一方、酢化度54.7%のセルロースアセテート繊維を用い、公知の方法によりアセテート不織布を製造した。不織布を構成するセルロースアセテート繊維の単糸織度は5.0デニールで、不織布の目付量は200g/m<sup>2</sup>であった。

【0071】この不織布を前記3種の培養液中に浸漬後、ピックアップ量が100%になるように絞り乾燥した。

【0072】得られた不織布を土中に埋没した結果、いずれも2か月後には布強度はほぼ0となり、生分解が進んだ。

【0073】一方、培養液での処理を行わなかった不織布について同様に試験を行った結果、2か月後には布強度は半分程度保持されていた。

【0074】同様の試験を大阪府茨木市耳原の帝人株式会社大阪研究センター内で採取した、温度30℃、十分な湿度下に保持した土を用いて行った。

【0075】上記の土中に不織布を2カ月間埋没した結果、培養液での処理を行わなかった不織布の強度低下は見られなかった。一方、培養液での処理を行った不織布の強度はいずれも半分以下となり、生分解が進んだ。

【0076】〔実施例2〕実施例1と同様に培養を行い、アルギン酸ナトリウムを濃度2%となるよう培養液

に加えた。

【0077】上記培養液に実施例1と同様に不織布を浸漬後、ピックアップ量が100%になるように絞り、これを更に0.5mol/lの塩化カルシウム水溶液に10分間浸漬した。土中での埋没結果はいずれも実施例1と同様であった。

【0078】〔実施例3、比較例1、2〕実施例1と同様に培養を行なって得られる培養液を遠心分離(1000rpm、10分)し、上澄画分を得た。この上澄画分にセルロースアセテート製メンブランフィルター(アドバンテック東洋製、No. C080A047A)一枚および、セルロース分解酵素(和光純薬製、*Trichoderma viride*由来、以下セルラーゼと称する)を1mg/mlとなるように加え、30℃で15日間振盪処理を行った。

【0079】比較対照として、セルラーゼを加えなかったもの(比較例1)、菌を植えなかった培養液(比較例2)についてもメンブランフィルターを加え、同様の処理を行った。

【0080】この結果、セルラーゼを加えた場合(実施例3)は、メンブランフィルターの崩壊がみられ、このメンブランフィルターは前記の反応染料により染色可能であった。一方、セルラーゼを加えなかった場合(比較例1)、メンブランフィルターの崩壊は見られなかったが、反応染料による染色は可能であった。

【0081】更に、菌を植えなかった培養液を用いた場合(比較例2)、メンブランフィルターの崩壊も反応染料による染色も見られなかった。

【0082】このように、環境中にセルラーゼが存在しない場合は、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微生物及び/又は該微生物が産生する脱アセチル

化酵素に加えてセルラーゼを担持させることにより、セルロースアセテート成形体の生分解性を調節することができる。

【0083】

【発明の効果】本発明のセルロースアセテート成形体は、セルロースアセテートの脱アセチル化能を有する微

生物及び／又は該微生物が産生するセルロースアセテート脱アセチル化酵素が担持されているので、適度に促進された生分解性を示し、所期の使用目的を達成した後は、分解して環境を汚染することがないので、農業用資材、水産用資材、包装用資材、建築用資材あるいは土木用資材などに広く用いることが出来る。

---

フロントページの続き

(51)Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:07)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:01)				